Forsch. Pflkr., Kyoto

京都大学教授　赤　井　重　恭　監　修

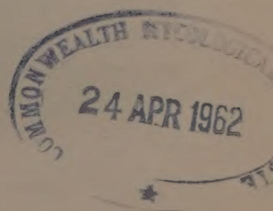
植　物　病　害　研　究

第 7 集　第 3 号

イネ胡麻葉枯病菌の菌系に関する研究 II

赤　井　重　恭・上　山　昭　則

Kyoto, Japan
1961



植物病害研究 (Shokubutsu Byogai Kenkyu, Kyoto) 7(3) : 23～33, 1961

イネ胡麻葉枯病菌の菌系に関する研究 II *

赤 井 重 恭・上 山 昭 則

Studies on some isolates of *Cochliobolus miyabeanus*, II

Shigeyasu Akai and Akinori Ueyama

先に筆者ら[1]はイネ胡麻葉枯病菌の2,3の分離系統について，人工培地上で生理学的性質を比較したが，供試系統は永年研究室に保存されている13および58号菌を除いて，他は接種試験に使用しうる程多量の胞子を形成しないので，寄主体侵害力の比較を行なっていない．その後筆者らはさらに胞子をつくる菌系を分離したので，それらの寄主体侵害力および生理学的性質を比較した．本報告は1952～1954の間に行なった実験結果であって，未だ完了したものではないが，一応今までの結果を取纒めることにした．本稿を草するに当り，水稲栽培に御便宜を与えられた本学赤藤教授，供試菌分離に協力せられた遠山明，寺沢沼両氏に深く謝意を表する．

1. 菌 系 の 分 離

前報[1]において，筆者らは主として7～8月頃の水稲成葉上の病斑から分離した菌を供試したが，本実験では，罹病籾（品種朝日)** 上に形成せられた分生胞子から直接分離して使用した．しかして分離菌系を乾杏煎汁寒天培地(pH3.8～4.0) に15日間培養した場合の胞子形成状況から大別すると，次の4群にすることができる（第1表)．

第1表　乾杏煎汁寒天上の胞子形成程度と菌系

Isolates of *Cochliobolus miyabeanus* and their sporulation degree on apricot-decoction agar

Sporulation degree	Number of isolates	Nos.
No sporulation	24	22, 32, 34, 41, 42, 44, 52, 53, 54, 62, 63, 64, 72, 73, 74, 81, 82, 91, 92, 94, 101, 102, 103, 104
A little sporulation	4	33, 61, 71, 93
Comparatively much sporulation	1	21
Sporulated greatly	2	11, 83

以上31分離系統のうち，胞子形成の比較的良好な11，21および83号を選び，それらに研究室保存の13，58号を加えて，7月上旬 (1953) 水稲品種，曲玉に噴霧接種し，さらに Czapek 寒天培地上に再分離した．

2. 分離系統の寄主体侵害力比較

胞子懸濁液の濃度と発病程度との関係

筆者らはまず一定範囲内の胞子濃度と発病程度との関係を調査して，それによって寄主体侵害力の比較を試みた．この種の実験では，各菌系を同時に比較するのが妥当であるが，実験の都合上1953年には13号菌を，1954年には11号菌を用いて行なった．まず Czapek-glucose-$NaNO_3$ 寒天培地上に 28°C 下で約2週間培養して形成せしめた胞子2試験管分を 0.5 % sucrose 液に懸濁して，ガーゼでろ過後50mlとして，それを原液とした．供試水稲(曲玉)は5月上旬播種し，6月下旬径20cmポットに植え付けて使用した．1953年7月25日に13号菌の，また1954年7月2日に11号菌の胞子懸濁液を各区20ml宛2鉢のポットに接種し（硝子製噴霧器を用いて，圧力 0.8 kg/cm^2)，5日後に上位から3葉までの病斑全数を測定した（第 2，3 表)．

---

* 京都大学農学部植物病理学研究室業績，No. 122
本研究の1部は文部省科学研究費で行なった．記して謝意を表する．
** 大阪府枚方市附近産

第2表 供試した胞子懸濁液の濃度

The concentration of spore-suspension used

Isolate No.		Spore-suspension ml	Dist. water [a)] ml	Total ml	Number of conidia in 1 ml of suspension: number	relative value
13	A	25.0	0	25	13750	8
	B	12.5	12.5	25	6875	4 {range of
	C	6.3	18.7	25	3437	2 {ordinary use
	D	3.1	21.9	25	1718	1
11	A′	25.0	0	25	28125	16
	B′	12.5	12.5	25	14062	8
	C′	6.3	18.7	25	7031	4
	D′	3.1	21.9	25	3516	2
	E′	1.6	23.4	25	1758	1

a) 0.5% sucrose was added

第3表 懸濁液の胞子濃度と発病との関係

Relation between the disease-occurrence and spore-load

Isolate No.	Concentration of [a)] conidia in 1 ml of suspension (relative value)	Number of spots per 1 cm leaf length: Number of large and middle-sized spots	Number of small spots	Total number	Relative value	Disease [b)] development index
13	8	0.69	1.01	1.70	4	41
	4	0.41	0.72	1.13	3	36
	2	0.24	0.35	0.59	2	41
	1	0.19	0.24	0.43	1	44
11	16	6.36	1.82	8.18	4	78
	8	4.92	1.38	6.30	3	78
	4	3.02	0.94	3.96	2	76
	2	1.46	0.59	2.05	1	71
	1	1.48	0.51	1.99	1	74

a) See Table 2

b) $\dfrac{\text{Number of large and middle-sized spots}}{\text{Total number of spots}} \times 100$

上表の如く，胞子濃度を異にして接種した場合には，実験の範囲内において総病斑数は明かに濃度に応じて差を生じその単位葉長当りの発病割合は胞子濃度の対数に比例する．その関係式は次の如くである．

$y = -4.30 + 1.43x$ ……………………13号菌

$4.13 > x > 3.24$

$y = -16.57 + 5.48x'$ ……………………11号菌

$4.45 > x' > 3.25$

y, y′：葉長1cm当り病斑数

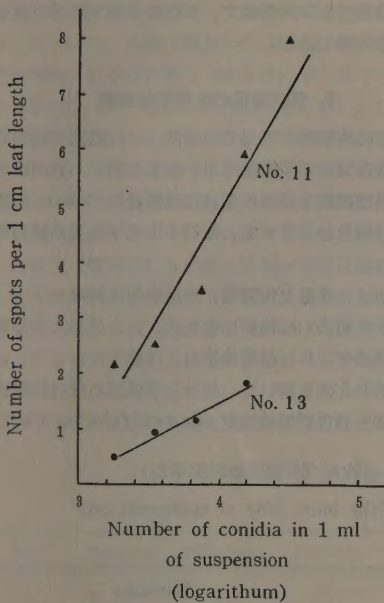
x, x′：胞子懸濁液1ml当り胞子濃度（対数）

しかして病斑拡大率は胞子濃度によって特に差を生じない．

上記実験は同時に行なったものではないが，もしこの接種試験が，供試両菌系ともに同一条件で行なわれたものとすれば，11号菌の病斑は13号菌に比して多いことになる．しかして第1図の直線がX軸となす角度は，分離系統の侵害力を表わすもののようである．

菌系の寄主体侵害力比較　供試水稲に亀治および曲玉を用い，5月上旬播種，6月下旬に径20cmポット（5万分の1反に相当）に1～3本宛植えつけ，湛水状態にして7月から9月にわたって順次使用した．

供試胞子は Czapek (glucose-$NaNO_3$) 培地上に28°C



第1図　供試菌胞子濃度と発育との関係

Ralation between the disease occurrence and the concentiation of spore-suspension

下で14～18日間培養して形成せしめたものである．なお接種は前項の実験と全く同様に行なった(第4表)**.

以上5回の実験結果を見ると，系統間に明かな差が認められた場合もあつたが，全く差が認められない場合もあつて，菌系間の侵害力の差を判定するのに困難を感ずる．しかし第4表の結果を綜合すると，11号菌は他の4系よりも侵害力強く，21号菌は最も弱いものと見なしてよいようである．なお亀治と曲玉の両品種間の抵抗性にも余り顕著な差を認め難く，僅かに亀治が強いようである．

一般に斑点性疾病の発生評価に当っては，病斑が葉上に占める大きさ，すなわち侵害面積と病斑数とに重きを置いているが，実際問題として疾病による作物の被害は病原菌侵犯に基づく作物の生理障害にあるから，それを加味した評価方法が望ましい．しかし現在の段階において，病斑の示す面積その他から生理的障害を確実に推測評価することはなお困難なことである．

従来胡麻葉枯病の評価に，葉の単位長当りの病斑数を用いてきたが，この評価法では病斑を大小に区分することなく行なうため，圃場において抵抗性と見做されている品種も，人工接種によるとかえって罹病性となる場合も少なくない．逸見[5]は別に用意した病斑数の基準表と比較して得た数の2倍を被害率と見做したが，小野[9]は本病病斑を細点型，斑点型および斑紋型の3型に区別して評価の資料を示している．しかし実際上，斑紋型は加里欠乏土壌あるいは陸稲に生じ易いものといわれているから，一般水田では普通細点型と斑点型とが見られることになる．

第4表　イネ胡麻葉枯病菌分離系統の寄主体侵害力比較

Comparison of the pathogenicity of the isolates of *Cochliobolus miyabeanus*

Variety	Isolate No.	Number of spots per 1 cm leaf length					Disease development index				
		* 1	2	3	4	5	* 1	2	3	4	5
Magatama	11	1.2	0.8	7.6	6.3	5.7	53.4	52.6	59.2	65.0	40.3
	13	0.3	0.2	3.7	3.9	2.0	25.4	35.5	39.4	44.8	22.5
	21	—	0.3	0.2	0.6	0.6	—	24.2	20.3	19.0	36.7
	58	0.2	0.7	1.7	3.6	3.6	16.4	51.2	45.3	42.0	29.1
	83	0.3	0.6	0.3	6.2	6.2	20.6	45.7	25.0	74.4	41.0
Kameji	11	0.4	0.6	—	6.2	7.1	46.4	42.4	—	46.5	32.9
	13	0.2	0.2	—	3.2	1.7	24.0	26.7	—	30.2	31.2
	21	—	0.3	—	0.6	0.2	—	23.5	—	13.7	42.8
	58	0.1	0.6	—	3.1	1.0	12.5	46.1	—	33.2	19.1
	83	0.2	0.4	—	6.3	6.6	15.7	37.6	—	68.7	37.7

* Trials in the inoculatfon test, performed in July-September, 1953 and in July, 1954.

** 夏期28°C 以上の場合には室温で培養

吉井らは病斑の壊死部および中毒部の面積が生理障害の程度に影響するものと考えて，大，中，小病斑に50：10：1 の荷重をあたえ抵抗性を比較したが[12]，さらに大，中病斑数の和が総病斑数に対する比を伸展率（%）と称して研究を進めている[13]．氏は河村・小野[7]が外国稲のイモチ病抵抗性を検討した場合にならって，本病斑を類別したが，大，中，小に分ける基準がない処に難点がある．

筆者らは菌系の寄主体侵害力を比較するに当って，まず吉井にならって肉眼的に大病斑と小病斑（細点型病斑）とを区別して，拡大率（伸展率）を比較した[13]．病原菌接種にあたって，各菌系の胞子懸濁液の濃度を全く同一にすることは頗る困難であるが，ある範囲内の胞子濃度で接種した結果では，菌系の拡大率は胞子濃度によって殆んど変化しない（第3表）．しかしこの系統拡大率は実験ごとにかなりの変動を示しているので，これによって菌系の差を求めることは困難である．

3．供試菌系の生理学的性質

培養ろ液の水稲細胞に対する毒性　供試菌の培養ろ液が水稲細胞に対して示す毒作用を知るため，ろ液中にイネ葉鞘裏面表皮細胞を浸漬して，1定時間後に KNO_3 溶液中で原形質分離をおこさせて，細胞の生死率からろ液の毒性を判定した．

供試水稲は，5月上旬播種，6月中旬径30㎝ポット（2万分の1反に相当）に移植したもの，および京大京都農場の水田に栽培せられた品種亀治および曲玉であって，止葉直下の葉鞘約5㎝を用いた．しかして供試ろ液は供試菌を28°C に40～45日間培養した Czapek (glucose-$NaNO_3$)

第5表　菌系培養ろ液の水稲葉鞘裏面表皮細胞に対する毒作用（3回実験結果平均）

Toxic action of the culture filtrate of five isolates to the inner side of epidermal cells of leaf sheath of rice plants

Isolate No.	Dry weight of mycelium mg/flask	pH of culture filtrate	Magatama [a] 1	Magatama 2	Magatama 4	Kameji [a] 1	Kameji 2	Kameji 4
11	842	6.8～7.0	[b] 11.1	89.9	98.2	[b] 9.3	93.3	100.0
13	741	7.4	0.8	1.7	97.8	1.9	60.1	98.4
21	604	7.4	3.9	99.1	98.7	0	92.9	100.0
58	980	7.0	5.2	8.4	95.3	6.7	31.6	100.0
83	799	6.8～7.0	3.8	95.9	100.0	16.8	98.4	100.0

a) Dipping time (hrs.) of leaf sheath in the culture filtrate

b) Per cent of dead cells with no plasmolysis (total number of cells measured : 210－916)

第6表　13号菌培養ろ液の安定性に関する実験

Stability of toxic substance in the filtrate of isolate, No. 13

Treatment	Volume of filtrate ml: before dialysis	Volume of filtrate ml: after dialysis	pH of culture filtrate [a]	Lethal effect to cells after 4 hrs: average number of cells tested	Lethal effect to cells after 4 hrs: average % of dead cells
not treated	——	——	4.8～5.0	106	100
dialysis through fish skin [b]	15	14	4.8～5.0	92	83.8
dialysis through parchment paper [b]	15	22	4.8～5.0	87	89.9
Ebios-glucose media	——	——	5.2～5.4	107	6.6
dist. water	——	——	5.6～5.8	83	3.6
filtrate boiled 3 min.	——	——	——	120	98.3

a) Used Toyo-Roshi pH paper

b) 15 hours dialysis in water

c) Average of 2－5 replications

液であって，実験実施に当って葉鞘裏面表皮細胞 1 cm^2 をうすくはぎとり，ろ液（液温10°～15°C）中に浸漬した．一定時間後それを水に移し（約 2 分），さらに 1 mol KNO_3 液中に浸漬して15分後に，原形質分離をおこしていない細胞数を測定した．なお葉鞘切断に伴う物理的傷害の影響を避けるため，測定はなるべく中央部の細胞に限定した（第 5 表）．その結果供試菌系の培養ろ液は 4 時間浸漬によって水稲表皮細胞をほぼ 100 %死滅せしめるが，亀治（抵抗性）と曲玉（罹病性）との間には明かな差は認め難い．しかして 1 時間浸漬後の結果では区内の変動が大きく，一定の値を示さないが，2 時間後の値はほぼ各菌系の毒力を表わしているものと考えられる．すなわち以上の結果から毒力の強い11，21，83号菌と弱い13，58号菌の 2 群に分けることができるが，毒性と接種試験の結果とは必らずしも平行していない．この点に関して赤井・田中[1]らもタマネギの細胞を用いて実験を行なっているが，その結果では本実験における場合と同様多年培養保存している13および58号菌の毒性が他の 3 系統のそれよりも明かに弱い．

以上のような培養ろ液の毒性が物理的に安定であるかどうかを確めるため，13号菌を用いて次の透析実験を行なった．培地に Glucose 3%-Ebios 0.3 %を，供試水稲品種に京都朝日を用いた結果では，代謝産物は Fish skin および硫酸紙によって透析されず，またろ液を 3 分間煮沸しても毒作用は失なわれない（第 6 表）．

菌糸培養ろ液の水稲 catalase 活性に及ぼす影響

上述の結果から本菌の培養ろ液中には何等かの有毒物質が分泌せられるものと考えられるが，それらが水稲葉の catalase に及ぼす影響を調査した．

第 7 表　供用した培養液の組成

Composition of media used

No.	Sucrose	NH_4NO_3	$NaNO_3$	KH_2PO_4	K_2HPO_4	$MgSO_4$	KCl	Ebios	$CaCO_3$
1	* 15	0.2	—	0.1	—	0.25	—	—	—
2	15	0.2	—	0.1	—	0.25	—	—	5
3	15	0.2	—	—	—	—	—	0.1	—
4	15	0.2	—	—	—	—	—	0.1	5
5	3	—	0.2	—	0.1	0.05	0.05	—	—
6	3	—	0.2	—	0.1	0.05	0.05	—	5
7	15	—	0.2	—	0.1	0.05	0.05	—	—
8	15	—	0.2	—	0.1	0.05	0.05	—	5

* gm in 100 ml of dist. water

第 8 表　培地組成の異なるろ液の水稲 catalase 活性に及ぼす影響

Influence of culture filtrates from different media of *Cochliobolus miyabeanus* upon the catalase activity of leaves of rice plants

No. of culture filtrates	pH of culture filtrates	Dry weight of mycelium mg/flask	Catalase activity	
			K×10⁴	inhibition degree %
not added	—	—	1559	—
1 a)	2.8～3.0	410	1343	13.9
2	5.6～5.8	— b)	802	48.6
3	3.8～4.0	574	1011	35.2
4	6.6～7.0	— b)	346	77.8
5	7.0	219	775	50.3
6	6.6～6.8	— b)	831	46.7
7	6.4	404	1289	17.3
8	6.4～6.6	— b)	1152	26.1

a) Culture No. described in Table 7

b) Dry weight could not be measured accurately owing to the addition of $CaCO_3$

本実験に使用した培地はクエン酸産生用のものであって，次の組成のものである（第7表）．これらの培養液を20ml宛容量100mlのflaskに分注して高圧殺菌（1気圧，10分）後，13号菌を植え付けて28°Cに保った．2週間後これらのろ液を用いて曲玉葉の汁液のcatalase阻害を比較したが，測定は前報[2,3]に従った（第8表）．

その結果，培地に$CaCO_3$を添加した場合には，pHの酸性側への移動が防止せられたが，それらにおいてcatalaseの阻害は概して著しい．しかしてcatalase作用の阻害は，ろ液の最終pHが7，すなわち中性に傾くに従って著しかったが，ろ液のpHと阻害作用との関係については精細な実験を行なっていないので確言できない．なおsucrose-NH_4NO_3-Ebios培地（No. 3, 4）のろ液が水稲catalase作用を最も強く阻害した．

筆者らはつぎに各菌系の培養ろ液が水稲曲玉葉汁液のcatalase作用におよぼす影響を比較した．培養液にはCzapek (sucrose-$NaNO_3$-Ebios) 液を用い，15ml宛容量100mlのflaskに分注して，28°Cに2週間培養したろ液を用いた（第9表）．

第9表　各菌系の培養ろ液が水稲曲玉の catalase 活性に及ぼす影響

Influence of cultrate filtrate of isolates upon the catalase activity of rice plants

Isolate No.	pH of culture filtrate	Dry weight of mycelium mg/flask	Catalase activity	
			$K \times 10^4$	inhibition degree %
——	——	——	1802	——
11	7.6	167	436	75.8
13	7.6	150	1264	29.9
21	7.2	147	1237	31.4
58	7.6	179	1199	33.5
83	7.4～7.6	174	957	46.9

第9表の結果から，水稲汁液中のcatalase阻害程度は11号菌において最も著しく，13号菌のそれは弱いようである．

菌系の培養上の性質比較

（i）滅菌法を異にして作製した人工培地中の糖成分の安定性　一般に人工培地の滅菌にはろ過法，蒸気滅菌法，あるいは高圧滅菌法などが採用されている．しかし，後2者の手段によって滅菌せられた場合に，培地の成分，特に糖の変化やpHの変動を確めておくことは菌類の培養試験に極めて重要なことであるので，Czapek培地の糖源をglucoseあるいはsucroseとして，滅菌方法の相違に基づく変化を調査した．

薬品はすべて化学天秤を用いて正確に秤量し，flask中の蒸留水に溶解して栓を施した．なおglucoseおよびsucroseは秤量前日大型時計皿にうすく拡げ，105°Cの恒温器中に15分間保った後desiccator中に貯えたものである．培養液調製に当っては，glucose，sucroseおよび糖無添加Czapekの3原液をつくり，それらから第10表の如き5区をつくり，それぞれ容量200mlのflaskに20ml宛分注した．なお各区の成分濃度はすべてCzapek液の半量であり，滅菌法はKoch蒸気滅菌（水の沸騰後flaskを釜の中に入れ正確に60分間宛3日間けつ殺菌）およびautoclave高圧滅菌（1，2，3気圧下に10分間）である．

還元糖の定量はLehmann-Maquenne-Schoorl法によったが，非還元糖の定量には，sample 10mlをとって5%HCl 5mlを加えて30分間加水分解し，冷却后NaOHを加えて微酸性とした後100mlとして，その20ml中の糖量から還元糖量を減じた値に0.95を乗じて求めた．なおpHは培養液調製4日後にガラス電極（Beckmann, G型 U.S.A. 製）を用いて測定した．

第10表に明かな如く，供試glucoseが純粋であり，かつ乾燥処理によって水分が完全に除去されていると仮定すると，後処理の場合のglucose回収率は理論値の95～96%である．しかし滅菌法の相違に基づく糖量の減少はglucose単用区では顕著に認められないが，pHの変化から推定すると，1部の区ではglucoseが酸化されて酸を生成し，pHの変化を来したものと考えられる．この事はCzapek-glucose区においても同様であって，高圧滅菌の結果pHは酸性側に移行しているが，糖回収率には殆んど差が認められない．しかるにsucrose単用区では，Koch蒸気滅菌区およびautoclave 3気圧区ともsucrose回収率は69%～54%以下に低下し，残余は還元糖として検出される点から考えて，sucroseはKoch滅菌処理によっても1部還元糖に変化し，さらに少量は酸にまで分解してpHの変化を来したものと推定される．しかしCzapek-sucrose区においては，このような変化は全く認められなかった．

第10表　滅菌法を異にして作成した培地中の糖成分の安定性

Stability of sugars in synthetic culture media sterilized by the different methods

Plot		Theoretical	Experimental				
			no treat-ment	Koch 60min. 3 times	Autoclave 1 Atm., 10 min.	Autoclave 2 Atm., 10 min.	Autoclave 3 Atm., 10 min.
Glucose only	pH	——	5.88	4.00	4.14	3.70	3.66
	glucose mg/ml	15.00	14.45	14.25	14.20	13.75	14.35
	recovery %	100.0	96.3	95.0	94.7	91.7	95.7
Czapek-glucose	pH	——	6.85	6.04	6.24	5.32	4.92
	glucose mg/ml	15.00	14.30	14.35	14.55	14.10	14.35
	recovery %	100.0	95.3	95.7	97.0	94.0	95.7
Sucrose only	pH	——	6.10	3.88	4.68	4.74	3.86
	glucose mg/ml	0	0(≒)*	3.40	0(≒)	0(≒)	6.72
	sucrose mg/ml	15.00	14.29	10.35	13.49	13.63	8.10
	recovery %	100.0	95.3	69.0	89.9	90.9	54.0
Czapek-sucrose	pH	——	6.98	6.88	6.94	6.88	6.74
	glucose mg/ml	0	0(≒)	0(≒)	0(≒)	0(≒)	0(≒)
	sucrose mg/ml	15.00	14.34	14.21	13.91	14.21	14.29
	recovery %	100.0	95.6	94.7	92.7	94.7	95.3
Czapek without sugar	pH	——	7.02	7.10	70.4	7.12	7.10
	glucose mg/ml	0	0(≒)	0(≒)	0(≒)	0(≒)	0(≒)

*(≒) approximately

以上の結果から，(1) glucose および sucrose を単用して滅菌すれば，何れもpH は酸性側へ移動する.(2) sucrose は，筆者らの方法によると Koch 滅菌および 3 気圧殺菌によって 1 部還元糖を生ずるから，糖源として sucrose を使用する場合には注意を要する.(3) Czapek-glucose あるいは Czapek-sucrose の場合には，糖の回収率および pH には特に変化を認めない．これは Czapek 液中の K_2HPO_4 その他の成分の緩衝能に基づくものと考えられる.(4)滅菌法としては，Czapek 液のような蛋白質を含まない培地では，1 気圧10分間の高圧殺菌が時間の節約からも適当である．なおこの実験結果によれば，糖の分解は加圧に基づく変化よりも，むしろ Koch 滅菌処理の如く長時間加熱しつづけること，また 3 気圧殺菌の如く，高圧に一定時間保った後気圧を下げるに要する時間（この場合は60分を要した）が分解に関与しているものと推定される．

（ii）培地における菌糸発育

先に杤内・坂本[11]および菊地[8]は多数の分離系統について詳細な研究を行なったが，筆者らも供試5系について稲藁煎汁，Richards 液，馬鈴薯煎汁各寒天培地上での性質を比較した．その結果，11，13，58，83号菌は栃内，坂本の分類[11]におけるgroup Ⅰ に，21号菌はgroup Ⅲ に属するもののようである．なお固体培地上における菌叢の発育は第11表の如

第11表　固体培地上における菌そう発育

Mycelial growth of the isolates on nutrient agar

Isolate No.	Rice leaves decoction agar * 3	6	9	Richards agar * 3	6	9	12
11	** 32	53	80+	19	32	43	60
13	35	62	80+	21	31	43	55
21	41	80	80+	25	40	53	66
58	33	60	80+	18	26	35	51
83	30	59	80+	17	28	43	53

* Culture duration, day　　** Diameter of mycelial mat, mm

くであって，供試5菌系中，胞子形成の比較的少ない21号菌の菌糸発育速度が最も速かである．

つぎに Czapek 液中における各菌系の発育を比較したが，容量50mlの flask に20ml宛の培地を分注して，28°Cで1定期間静置培養後，ろ過，乾燥して菌体重を求めた(第12表)．

第12表　Czapek 液における菌糸の発育 (28°C)

Mycelial growth of the isolates in Czapek solution at 28°C

Isolate No.	Dry weight of mycelium * 4	8	12	16	Amount of mycelial development per 4 days mg 4	8	12	16	pH range in culture duration	Reducing sugar** in filtrate
11	19	62	77	181	19	43	15	104	5.2 ～ 7.2	+
13	22	107	172	195	22	85	65	23	5.2 ～ 7.2	−
21	7	108	135	138	7	101	27	3	5.2 ～ 7.2	−
58	9	74	111	186	9	65	46	75	5.2 ～ 7.2	+
83	5	59	83	145	5	54	24	62	5.2 ～ 7.2	+

* Culture duration, days　　** Tested with Bertrand-reagent

この場合においても，21号菌および13号菌の菌系発育が速かなようである．なお培養4日ごとの菌体発育量から比較すると，13および21号菌はその発育の peak を8日目にもっているようである．このことは培地中の還元糖の有無からも推定することができる．しかしその他の菌系では16日目あるいはそれ以後に peak があるようである．

(iii)　菌系の菌糸発育と glucose の消費　　菌糸発育による培地中のglucose 消費と菌体重との関係を知るため，Czapek (glucose-$NaNO_3$) 液を容量200mlの flask に50ml宛分注して，菌糸を植えつけ，28°Cに2週間培養した結果は第13表の如くである．すなわち菌体1mg 当りの消費ブドウ糖量は継代培養の永い13号菌において少ない．

第13表　菌系の糖経済率比較

Comparison of economic coefficient of sugar in 5 isolates of *C. miyabeanus*

Isolate No.	Dry weight of * mycelium mg/flask	Glucose consumed mg/flask	Economic coefficient ×100
11	218	695.0	318
13	337	905.0	268
21	210	772.5	367
58	339	940.0	277
83	257	857.5	333

* Average of 3 flasks, cultured 14 days at 28°C

(vi) 菌系の菌糸発育に及ぼす硫酸銅の影響　筆者らは薬剤に対する菌系の反応を見るため，硫酸銅を添加した培養液中における菌糸の発育を比較した．

Czapek 原液に M/250 $CuSO_4 \cdot 5aq$. 液および蒸留水を加えて，種々の濃度の液をつくった．これらを容量 100 *ml* の flask に20*ml*宛分注して，0.8 気圧で殺菌後，1 系統 3 〜4 flask を用い，28° C下で培養した．14日後ろ過して，菌体重を比較したが，その結果（第14表）によると，硫酸銅0.25×10^{-3} Mol 以下の添加では無添加区と顕著な差が認められなかったが，それ以上の添加では菌系発育は著しく抑制される．しかし菌系間における硫酸銅抵抗力の強弱を決定することは難しい．

第14表　$CuSO_4$ 添加 Czapek 液中の菌糸発育

Mycelial growth of *C. miyabeanus* in Czapek solutions with different amount of copper sulphate

Concentration of $CuSO_4$ 10^{-3} Mol	Dry weight of mycelium mg/flask					Relative value of dry weight				
	11	13	21	58	83	11	13	21	58	83
0	230	256	174	238	225	100	100	100	100	100
0.125	226	233	166	230	229	96	91	95	97	102
0.25	239	235	171	220	224	101	92	98	92	100
0.50	101	30	47	94	137	43	12	27	39	61
1.00	49	48	36	26	29	21	19	21	11	13

* Cultured at 28 ± 0.5°C.

4. 論　　議

イネ胡麻葉枯病菌の有性時代は既に伊藤および栗林[6)]によって報告されているが，一般には，本菌は無性時代である分生胞子によって繁殖するものである．この分生胞子は1細胞中に複数の核を含んでいるので[4)]， heterocaryosis の問題が生じてくる．従って実験に際しては，分離系統の安定性を考慮する必要があると共に，従来の単胞子分離のみでは純粋と考えるのに疑問の余地がある．生態種の概念を正確に表現することは極めて困難であるが，植物疾病防除上からは，これらの存在は重要な意義をもっている．筆者らは本菌の分離系統の寄主体侵害力および供試系統の2,3生理的性質を比較したが，分離系統の寄主体侵害力を比較する際，問題となるのは上記供試菌の遺傳学的構成の不安定と接種試験の方法およびその結果の評価法であろう．

接種試験結果のふれる原因は，病原菌の遺伝学的構成の不安定よりも，むしろ従来の病斑評価法に大きな問題があるように思われる．しかして菌系の侵害力の比較には，
(1) 接種する胞子懸濁液の濃度（個 / *ml*）を測定し，4〜5段階の胞子濃度で接種する．(2) 単位長当りの総病斑数を測定して，病斑数と胞子濃度との関係式，$y = a + bx$ を求め，この1次式の直線の延長が軸となす角度を侵入抵抗と考える．(3) 病斑の大きさを測定して，その頻度分布曲線を比較するなどが考えられる．

従来接種試験において，結果の評価に際して単位葉長当りの総病斑数と拡大率（伸展率）すなわち大，中病斑数の総病斑数に対する比が用いられてきた．前者は一応侵入抵抗を示すものと考えられるが，微細な斑点状病斑も大型病斑と同様に評価される点に罹病性品種判定の実用上に不合理がある．さらに菌系を比較する場合に，接種する胞子濃度を全く等しくしなければ比較の意義がないが，実際には殆んど不可能である．しかして後者では病斑の大小を判定するのに正確な基準がない．病斑の大きさの分布曲線において，罹病性品種のそれが抵抗性品種のそれよりも右側にずれるとすれば，比較の資料として用いうるが，しかし黒崎[9)]によると，本病の病斑には微細な点状病斑が圧倒的に多く，かつ分布曲線は正規分布をしないというから，この方法によって品種，あるいは系統による病斑の大きさの差を比較することは困難かも知れない．

つぎに殺生菌である本菌の生理的性質について2，3の実験を行なった．まず供試菌系の培養ろ液が水稲に及ぼす影響として，葉鞘裏面表皮細胞をろ液中に浸漬して，1定時間後に原形質分離の有無によってその致死率を比較した．2時間後の結果では，特に分離した3系の作用が永年継代培養した2系よりも強いようである．しかして品種亀治の細胞は曲玉のそれよりもやや早く殺されるようであるが，この結果と細胞の過敏性反応との間の関係についてはなお考察していない．この毒物質は硫酸紙および fish skin によって透析されず，3分間の煮沸にっても顕著な変化がうけない．

培養ろ液が稲汁液の catalase 活性に及ぼす影響は，11号菌に対して特に強く，ついで83号菌であるが，他の3菌系のそれは殆んど同じ程度である[14)]．

Czapek (glucose-$NaNO_3$) 液中での菌系の glucose 経済率は継代培養の永い13号菌および58号菌において大きい．なお本実験に使用した分離系統はすべて罹病籾上の胞子を合成培地に分離したものであるが．接種試験に使用しうる程度の胞子量を形成するものは極めて少ない．従って胞子形成を促す要因の追及が接種試験のみならず，菌体生理研究の上からも肝要である．

5. 摘　　要

本論文はイネ胡麻葉枯病菌の5分離系統について，水稲侵害力および生理的性質を比較したものである．

1. 胞子懸濁液の濃度（個/ml）を測定して，4～5段階の胞子濃度で接種した場合，単位葉長当りの発病割合は胞子濃度の対数に比例し病斑数と胞子濃度との関係直線がX軸となす角度は侵入抵抗と考えられる．

2. 供試5菌系を比較した場合，分離系統11号は他の4系よりも侵害力強く，21号菌は最も弱いもののようである．

3. 培養ろ液の毒性を，葉鞘裏面表皮細胞を浸漬することによって比較した結果では，特に分離した11，21，83号菌のそれは強く，継代培養している13，58号菌のそれは弱い．

4. 培養ろ液の毒性物質は fish skin,硫酸紙で透析されず，3分間煮沸によっても分解されない．

5. 培養ろ液の水稲葉の catalase 活性阻害作用はsucrose-NH_4NO_3-Ebios培地の場合に最も強く，培地に$CaCO_3$を加えた場合の方が概して著しい．しかしてその阻害作用は11号菌においても最も著しい．

6. 培地に加えた糖類は滅菌法の如何によって可成り分解する場合がある．特に glucose または sucrose を単用した場合に長時間滅菌することは分解を著しくする．しかし Czapek-sucrose または Czapek-glucose とした場合には，その変化はあまり著しくない．

7. 供試菌系の固体培地上での菌糸発育は21号菌において最も速かである．液体培地上においても大体同様である．

8. 発育におよぼす $CuSO_4$ の影響には供試菌系間に差を認め難い．

引　用　文　献

1. Akai, S. and M. Tanaka (1954) Mem. Coll. Agr., Kyoto Univ., 69 : 13-29
2. 赤井重恭・上山昭則 (1953) 医学と生物学26(2) : 70-73
3. Akai, S. and A. Ueyama (1955) Shokubutsu Byogai Kenkyu (Kyoto), 5(3) : 87-94
4. Goto, I. (1954) Bull. Yamagata Univ. (Agr. Ser.) 1(4) : 94-103
5. 逸見武雄 (1947) 農業及園芸 22(6) : 303-305
6. Ito, S. and K. Kuribayashi (1931) Jour. Fac. Agr. Hokkaido Imp. Univ., 29(3) : 85-125
7. 河村栄吉・小野小三郎 (1948) 農試彙報 4 : 13-22
8. 菊地忠夫 (1937) 植物病害研究（京都）3 : 18-42
9. 黒崎良男 (1957) 日・植・病・報 22(4-5) : 251-256
10. 小野小三郎 (1953) 北陸農業研究 2(1) : 1-77
11. Tochinai, Y. and M. Sakamoto (1937) Jour. Fac. Agr. Hokkaido Imp. Univ., 41 : 1-96
12. 吉井　啓・松本益美 (1951) 松山農大報告 6 : 23-60
13. Yoshii, Hi. (1957) Mem. Ehime Uuiv. Sect VI (Agriculture) 3(1) : 1-149
14. 毒素の抽出に関してはつぎの報告がある
    Orsenigo, M (1955) : Ann. Sper. Agr(Roma) : 1-47
    (1957) : Phytopath. Zeit. 29(2)189-196
    中村路一・石橋慶次郎 (1958) 日農化 32 : 739-744

Résumé

The present paper dealt with the result of experi- ients on the pathogenicity of the five isolates of *ochliobolus miyabeanus* to rice plants, and the com- arison of their physiological characters.

1. When inoculated with conidia suspension of this ungus to rice plants after preparing the conidia sus- ension into 4-5 classes of the concentration, the egree of disease occurrence (number of spots per nit length of leaf) runs parallel to the logarithm of he concentration of spore load. It may be considered hat the angle of inclination of the straight line of isease occurrence to the x-axis shows the resist- nce to invasion.

2. Isolate No. 11 has the higher pathogenicity than hat of the other isolates used, and No. 21 has the owest pathogenicity.

3. The toxicity of culture filtrate to rice plants was ieasured by soaking lower side epidermal cells of eaf sheath. Among the five isolates used, the filtrate f newly isolated culture strains, Nos. 11, 21, and 83 as more toxic than that of No. 13 and 58, which ave been cultured for a long time.

4. Toxic substance in culture filtrate was not dia- zed in water through fish skin and parchment paper. It is not also destroyed by three minutes-boiling.

5. Inhibition of catalase activity in expressed sap of rice leaves by culture filtrate was most intensive, when the fungus was cultured in sucrose-NH_4NO_3-Ebios medium, especially when $CaCO_3$ was added to the medium. The inhibition of the activity was most remarkable in the filtrate of No. 11.

6. Sugars which were added to culture media, are sometimes decomposed depending upon the steriliza- tion method. Especially when sucrose-water was used, it was markedly destroyed, if the medium was sterilized for a long time. However, if sugar was used as Czapek-sucrose or Czapek-glucose media, decomposition was not so severe.

7. The growth rate of mycelium on agar media was most rapid in No. 21, and it was the same in liquid media.

8. It is difficult to recognize the difference in the effect of copper sulphate on the mycelial growth of the isolates used.

Laboratory of Phytopathology,
College of Agriculture,
Kyoto University